

Hifair[®] Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Kit

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|-----------|---------|
| | 13800ES60 | 100 T |
| Hifair [®] Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Kit | 13800ES80 | 1000 T |
| | 13800ES92 | 10000 T |

产品描述

Hifair[®] Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Kit 是以 RNA 为模板进行多重定量 PCR 反应的试剂盒。在实验的过程中，逆转录和定量 PCR 在同一反应管中进行，简化了实验操作，降低了污染的风险。独特的 Buffer 设计，在体系中不包含影响冻干工艺的化学试剂，可用于一步法 RT-qPCR 冻干反应体系的配制和产品设计。

本试剂盒利用耐热 Hifair[®] V Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并利用 UNICON[®] HotStart Taq DNA Polymerase 进行定量扩增。本试剂盒主要包含优化的冻干 Buffer，Enzymes Mix 等，缓冲液中已含有 Mg²⁺ 和 dNTP 等，并添加了有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子和提升多重 qPCR 反应扩增效率的因子，能够在保证引物扩增效率的同时，进行多重荧光定量扩增反应。

产品组分

| 组分编号 | 组分名称 | 产品编号/规格 | | |
|---------|---------------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| | | 13800ES60 (100 T) | 13800ES80 (1000 T) | 13800ES92 (10000 T) |
| 13800-A | 4×Hifair [®] Lyo-Buffer | 625 μL | 6.25 mL | 62.5 mL |
| 13800-B | Hifair [®] Lyo-Enzyme Mix | 100 μL | 1 mL | 10 mL |
| 13800-C | DEPC-treated Water (DNase、RNase free) | 1.5 mL | 15 mL | 150 mL |

【注】1) 4×Hifair[®] Lyo-Buffer 为 Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写。

2) Hifair[®] Lyo-Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair[®] V Reverse Transcriptase 和 UNICON[®] HotStart Taq DNA Polymerase。

适用机型

ABI 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne[™], StepOne Plus[™], ABI 7500, 7500 Fast, ViiA[™]7, QuantStudio[™] 3 and 5, QuantStudio[™] 6,7,12k Flex, Stratagene MX3000P[™], MX3005P[™], MX4000P[™], Bio-Rad CFX96[™], CFX384[™], iCycler iQ[™], iQ[™]5, MyiQ[™], MiniOpticon[™], Opticon[®], Opticon[®] 2, Chromo4[™], Eppendorf Mastercycler[®] ep realplex, realplex 2 s; Qiagen Corbett Rotor-Gene[®] Q, Rotor-Gene[®] 3000, Rotor-Gene[®] 6000, Roche Applied Science LightCycler[®] 480, LightCycler[®] 2.0; Lightcycler[®] 96, Thermo Scientific PikoReal Cycler; Cepheid SmartCycler[®]; Illumina Eco qPCR

运输与保存方式

1. 运输方式：冰袋运输。

2. 保存方式：

Part 1: 13800-A 【4×Hifair[®] Lyo-Buffer】-20℃ 保存，有效期 1 年。

13800-C 【DEPC-treated Water (DNase、RNase free)】-20℃ 保存，有效期 1 年。

Part 2: 13800-B 【Hifair[®] Lyo-Enzyme Mix】4℃ 保存，有效期 6 个月。

3. 本品避免反复冻融。建议分装保存。

注意事项

1. 实验过程中请使用 RNase free 耗材。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

反应体系（以 25 μ L 为例）

| 组分 | 体积 (μ L) | 终浓度 |
|---|---------------|--------------|
| 4 \times Hifair [®] Lyo-Buffer | 6.25 | 1 \times |
| Hifair [®] Lyo-Enzyme Mix | 1 | - |
| Primer Mix (10 μ M) | 各 0.4 | 0.16 μ M |
| Probe Mix (10 μ M) | 各 0.2 | 0.08 μ M |
| 模板 RNA | 1-5 | - |
| RNase Free H ₂ O | to 25 | - |

【注】：使用前务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。

- a) **引物浓度：**Primer Mix 中包含多对引物，通常每条引物终浓度可以根据情况在 0.1-1.0 μ M 间进行调整。
- b) **探针浓度：**Probe Mix 中包含多条不同荧光信号的探针，每条探针的浓度可根据具体情况在 50-300 nM 间调整。
- c) **模板稀释：**qPCR 灵敏度极高，建议将模板进行稀释使用，控制 Ct 值在 20-35 之间适宜。
- d) **反应体系：**推荐使用 25 μ L 或 50 μ L，以保证目的基因扩增的有效性和重复性。
- e) **体系配制：**请于超净工作台内配制，并使用无核酸酶残留的枪头、反应管；推荐使用带滤芯的枪头。避免交叉污染和气溶胶污染。

标准扩增程序

| 反应阶段 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|--------|---------------------------|-------------------------------|-----|
| 1 逆转录 | 50°C ^a | 10 min | 1 |
| 2 预变性 | 95°C | 5 min | 1 |
| 3 扩增反应 | 95°C 60°C ^b | 15 sec 30 sec ^c | 45 |

【注】：

- a) **逆转录：**42°C 或者 50°C 均可，时间 10-15 min。
- b) **扩增反应：**扩增反应温度根据设计的引物 T_m 值进行调整。CDC 官方推荐的 *ORF1ab* 和 *N* 引物，退火温度建议 $\geq 60^\circ\text{C}$ 。
- c) **荧光信号采集：**不同的 qPCR 检测仪器所需的荧光信号采集时间不同，请根据最短时间限制进行设置。